CDI # 9007A
9007C-1
9007C-2

C-six® Diagnostics, Inc.

L I M

Lymphocyte Isolation Media

〈品名〉 C－six LIM

〈用途〉 ヒトリンパ球，単球の分離

〈組成〉 Diatrizoate Sodium 9.1% (w／v)
Polysaccharide 5.7% (w／v)
＊ 滅菌処理済

〈密度〉 1.077±0.001g／mℓ

〈保存〉 室温 遮光

〈有効期限〉 製造後5年

〈包装，価格〉

カタログ番号	包装	価格
9007A	100mℓ×6	20,000円
9007C－2	300mℓ×10	80,000円

Produced by C-six® Diagnostics, Inc.
Wisconsin USA

CDI # 9007A
9007C-1
9007C-2

C－six LIM 取扱説明書

平成11年6月

【C－six LIM】

「C－six LIM」は密度1.077±0.001g／mℓに調整された、ヒトリンパ球及び単球の分離液です。

「C－six LIM」はゴム製の蓋の付いた100mℓまたは300mℓの容器に入っており、注射器での吸引が可能となっています。

「C－six LIM」は光に影響を受けやすいので、遮光して保存して下さい。

室温保存でも構いませんが、4～6℃で保存すると品質はさらに保たれます。

【器具及び試薬】

1. 10mℓの試験管を各検体毎
2. パスツールピペット
3. 遠心分離用の試験管を各検体毎
   （試験管は15mℓ用で内径が1.3cmのものが適しています）
   検体が大量の場合は「注意」をご参照下さい
4. 遠心分離機
5. 滅菌済注射器
6. 「C－six LIM」を各検体毎に3mℓ
7. 生理食塩水を各検体毎に2mℓ

【検体の準備】

リンパ球の生存率を高めるため、新鮮な血液をご使用下さい。

1. 2mℓの繊維素除去血液または抗凝固剤入りの血液を10mℓ試験管に入れ、同量の生理食塩水を加えます。
2. パスツールピペットでピペッテイングして下さい。

【作業手順】

1. 「C－six LIM」の蓋のツマミをはがします。
   瓶を逆さにし、滅菌済注射器を使い分離液を取り出します。
2. 遠心分離用の試験管に分離液を3mℓ加えます。
   パスツールピペットで分離液の上に検体（血液）を静かに加えます。
   または、試験管にあらかじめ検体（血液）を加え、パスツールピペットを試験管の底面に付け分離液を注入し、リンパ球の層の下に分離液の層を作ります。
   この時、二つの層が混ざらないように注意して下さい。
   界面の乱れにより著しくリンパ球の回収率が低下することがあります。
3. 温度を18～20℃に設定し、400Gで30～40分間検体を遠心分離します。
4. リンパ球層を混入させないように、上層をパスツールピペットで丁寧に取り出します。
   （この上層には血漿と血小板が含まれています。）
5. 清潔なパスツールピペットで丁寧にリンパ球を取り出します。
   分離液の層は顆粒球を含んでいるので混入を避けて下さい。

【リンパ球の洗浄】

1．リンパ球を清潔な遠心用の試験管に移します。
2．最低3倍量のＴＲＩＳバッファーを加え、パスツールピペットでピペッティングし、リンパ球を懸濁させます。
3．温度を１８～２０℃に設定し、６０～１００Ｇで１０分間遠心分離します。
4．上澄みを取り除きます。
5．６～８ｍℓのＴＲＩＳバッファーを加え、上記と同様にリンパ球を懸濁させます。
6．温度を１８～２０℃に設定し、６０～１００Ｇで１０分間遠心分離します。
7．上澄みを取り除きます。
8．次の作業に適した培養液の中で、再びリンパ球を保存して下さい。

【注意】

1．検体（血液）に触れる全てのガラス製品はシリコン加工されているものをお選び下さい。
2．リンパ球分離の再現性を維持するために、血液の量と試験管のサイズを一定にして下さい。
血液の層が高いほど遠心分離に時間がかかり、赤血球の混入率も高くなってしまうので、非常に重要なことです。
大量の検体（血液）の場合は、血液と分離液の層の高さを一定にするために、径の広い試験管をご使用下さい。
3．遠心分離する時の温度は１８～２０℃が最適です。
温度が高いと赤血球の凝集が起こり、リンパ球の生存率は落ちます。
また、温度が低いと分離に時間がかかり、リンパ球の生存率は落ちます。
4．「Ｃ－ｓｉｘ ＬＩＭ」には繊維素除去血液が適していますが、ＡＣＤ、ＣＰＤ、ヘパリン、ＥＤＴＡ、クエン酸等の抗凝固剤入りの血液もご使用になれます。
5．この検査でのリンパ球の回収率は総細胞量の７０±１０％です。

【文献】

1. Boyum A (1964) : Separation of White Blood Cells. Nature 204, P. 903.
2. Boyum A (1968) : Separation of Leucocytes from Blood and Bone Marrow. Scand. J. Clin. Lab. Invest, 21, Suppl, 97.
3. Favour C. B (1964) : Antigen-antibody Reactions in Tissue Culture. Immunological Method, Ed. J. R. Ackroyd, P. 195-223 Blackwell Scientific Publ., oxford.
4. Harris R and Ukaejiofo E. V (1969) : Rapid Preparation for Lymphocytes for Tissue Typing. Lancet 327, 7615.
5. Ting A and Morris P. J (1971) : A Technique for Lymphocyte Preparation from Stored Heparinised Blood. Vox Sang. 20, 561.
6. Thorsby E and Bratlie A (1970) : A Rapid Method for Preparation of Pure Lymphocyte Suspensions. Histcompatibility Testing 1970, Ed. P. I. Terasaki, P. 655, Munksgaard, Copenhagen.

Produced by C-six® Diagnostics, Inc.
Wisconsin USA